

รายงานฉบับสมบูรณ์

โครงการ การจำแนกแกรมลง *Hypocrella scutata* ที่ป่าพรุสิรินธรโดยวิธี  
ทางอณูวิทยาและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่สร้างขึ้น

Molecular Identification of Insect Fungus *Hypocrella scutata* at  
Phru Sirindhorn and Its Bioactive Compounds

โดย

รศ.ดร. เสาวลักษณ์ พงษ์ไพจิตร

รศ.ดร. วัชรินทร์ รุกขไชยศิริกุล

Dr. Nigel L. Hywel-Jones

คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินรายได้มหาวิทยาลัย ประจำปี 2545

ประเภทกำหนดหัวข้อ

## บทคัดย่อ

ทำการเก็บราแมลง *Hypocrella scutata* บนใบหว่านิน (*Syzygium tumida*) และหว่านินน้ำ (*Syzygium oblatum*) จากป่าพรุสิรินธร จังหวัดนครราชสีมา จำนวน 2 ครั้ง สามารถแยกเชื้อราได้ 45 และ 31 isolates จากราแมลงที่เจริญเต็มที่ 97 และ 46 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 46.4 และ 67.4 ตามลำดับ เชื้อรามีการเจริญข้ามมากบนหุ่นอาหาร โคโลนิมีลักษณะไม่แน่นอน การทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์เบื้องต้นโดยวิธี agar diffusion พบว่า *H. scutata* 25 isolates จากเชื้อราทั้งหมด 34 isolates (ร้อยละ 73.5) แสดงฤทธิ์ต้านราโดย *H. scutata* 18 isolates (ร้อยละ 52.9) สามารถยับยั้งเชื้อรา *Microsporium gypseum* เพียงชนิดเดียว *H. scutata* 1 isolate (ร้อยละ 2.9) สามารถยับยั้งเชื้อ *Cladosporium* sp., *Alternaria* sp. และ *Curvularia* sp. และอีก 6 isolates (ร้อยละ 17.7) ยับยั้งเชื้อ *M. gypseum*, *Cladosporium* sp., *Alternaria* sp. และ *Curvularia* sp. แต่ไม่พบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียและยีสต์ *H. scutata* เจริญได้ดีที่สุดบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) และสร้างสารต้านจุลินทรีย์ได้ดีในอาหาร potato dextrose broth (PDB) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ราไม่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ได้ทำการสกัดส่วนน้ำเลี้ยงเชื้อและส่วนมวลชีวภาพของ *H. scutata* isolates SSC18 และ P36 ด้วยเอธิลอะซิเตท เมธานอล และบิวทานอล และนำมาทดสอบฤทธิ์ต้านรา พบว่าน้ำเลี้ยงเชื้อมีฤทธิ์ต้านราดีกว่า ส่วนมวลชีวภาพ น้ำเลี้ยงเชื้อ SSC18 ที่ทำให้แห้ง (freeze-drying) มีฤทธิ์ดีกว่าของ P36 โดยมีค่า minimum inhibitory concentration (MIC) ต่อเชื้อรา *M. gypseum*, *Cladosporium* sp., *Alternaria* sp. และ *Curvularia* sp. เท่ากับ 64, 32, 16 และ 32 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และไม่เป็นพิษต่อเซลล์ไรซีน้ำตาล (*Artemia salina*) โดยมีค่า  $LC_{50}$  มากกว่า 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากการวิเคราะห์ลำดับเบสบางส่วนของ 18S และ 28S rDNA ของเชื้อรา *H. scutata* SSC18 และ SSC57 แสดงว่าเชื้อรานี้อยู่ในวงศ์ Clavicipitaceae อันดับ Hypocreales

## Abstract

Stromata of *Hypocrella scutata* on *Syzygium tumida* and *Syzygium oblatum* leaves were collected twice from the Sirindhorn Peat Swamp Forest, Narathiwat Province. Forty-five and 31 isolates were obtained from 97 (46.4%) and 46 (67.4%) fresh mature specimens, respectively. *H. scutata* grew with irregular colonial morphology on agar media. Antimicrobial screening was performed using the agar diffusion method. Twenty-five out of 34 *H. scutata* isolates (73.5%) exhibited antifungal activity: 18 isolates (52.9%) were active only against *Microsporum gypseum*, while one (2.9%) was active against *Cladosporium* sp., *Alternaria* sp. and *Curvularia* sp. and six (17.7%) were active against all 4 test fungi mentioned. All *H. scutata* isolates showed no activity on bacteria and yeasts. The maximum growth of *H. scutata* was on potato dextrose agar and maximum antimicrobial activity was from potato dextrose broth at 25 °C. This fungus does not grow at 35 °C. Culture filtrate and biomass of isolates SSC18 and P36 were extracted with ethyl acetate, methanol and n-butanol. Antifungal tests showed that the culture filtrate has a higher activity than the corresponding biomass. Freeze-dried culture filtrate of *H. scutata* isolate SSC18 inhibited the growth of *M. gypseum*, *Cladosporium* sp., *Alternaria* sp. and *Curvularia* sp. stronger than that of isolate P36 with the minimum inhibitory concentration (MIC) values of 64, 32, 16 and 32 µg/ml., respectively. Broth freeze-dried culture filtrate were not cytotoxic to brine shrimp (*Artemia salina*) larvae, LC<sub>50</sub>>1,000 µg/ml. Molecular identification based on 18S and 28S rDNA sequence analysis of *H. scutata* SSC18 and SSC57 demonstrated that this fungus belongs to Family Clavicipitaceae and order Hypocreales.